Feel so Bio キットシリーズ

#008 DNA 鑑定キット

取扱説明書

1-100-008

目次

本キットの特徴

本キットは、DNA の塩基配列の違いを制限酵素処理によって検出するキットです。

現在、制限酵素を用いた DNA 鑑定の手法は生物学の研究のみならず、犯罪捜査や親子鑑定、考古学の分野など幅広い分野で応用され、バイオテクノロジーの中でも最もよく知られている技術の一つです。

本キットを通じて、DNA や制限酵素の化学的性質を学び、さらにバイオテクノロジーの応用技術について興味を持つきっかけを得ることができます。

キット使用時に必要な試薬・機材等の一覧

キット内容（生徒 20 名、5 班（4 人 1 班）分）

・DNA サンプル 1	100 µl
・DNA サンプル 2	50 µl
・DNA サンプル 3	50 µl
・制限酵素　*Hin*dⅢ	30 µl
・制限酵素バッファー	30 µl
・DNA マーカー	60 µl
・ローディングバッファー	110 µl
・40 倍濃縮電気泳動バッファー	25 ml
・アガロース	2 g
・マイクロチューブ	50 本
・取扱説明書（本書）	1 冊

本キット以外に必要な試薬・機材一覧

・精製水	975 ml
・氷	500 g 程度
・マイクロピペット 20 µl 用	5 本（各班 1 本）
・マイクロピペット用チップ	5 箱（各班 1 箱）
・電気泳動槽	1～2 個
ミニゲルを 2 個泳動できる個数をご用意下さい。	
・37℃恒温槽	1 台
・フロート	5 個（各班 1 個）

※機材につきましては弊社で販売およびレンタル(有料)を行っております。ご入用の際にはお問合せください。

内容物について

<u>DNA サンプル 1、2、3</u>

　シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）のゲノム DNA の一部分をPCR によって増幅した DNA サンプルです。DNA サンプル 1 は倍量含まれていますので、授業の流れに沿って犯人を当てるゲームなどとしてお使いください。分解を防ぐ目的で TE バッファーに溶解してあります。必ず氷上で融解し、使用時も氷上に静置してマイクロチューブを温めないようご注意ください。また、使用後は速やかに－20 ºC に戻し、保存してください。

<u>制限酵素</u>

　Haemophilus influenzae Rd.由来の制限酵素 *Hin*dⅢです。酵素は常温では短時間で失活しますので、**必ず－20 ºC にて保存してください**。制限酵素は使用時には必ず氷上に置き、チューブを温めないようにご注意ください。使用後は速やかに－20 ºC に戻し、保存してください。本酵素は、37℃で最も高い DNA 切断活性を示します。

<u>制限酵素バッファー</u>

　制限酵素 *Hin*dIII が最も高い DNA 切断活性を発揮するように調製されたバッファーです。－20 ºC にて保存してください。10 倍に濃縮されておりますので、反応溶液の 1/10 量を混合してご使用ください。

<u>ローディングバッファー</u>

　DNA サンプルを電気泳動する際に使用します。－20 ºC にて保存し、使用前に氷上で融解させてください。色素を含み、衣服につくと落ちにくいので、取り扱いには十分にご注意ください。

　また、このローディングバッファーには泳動後の DNA 観察のための DNA 染色試薬が含まれています。蛍光色素ですので、できれば暗所にて保存をしてください。

アガロース

　核酸、タンパク質などの生体高分子を完全に除去した精製アガロースです。高温多湿をさけ、常温にて保存してください。

40 倍濃縮電気泳動バッファー

　40 倍の濃度に濃縮した TAE（トリス-酢酸-EDTA）バッファーです。アガロースゲルの作成および、DNA サンプルをアガロースゲル電気泳動法により分離する際の泳動バッファーとして使用します。4℃にて保管してください。電気泳動用バッファーとして使用の際は、精製水で 40 倍に希釈してご使用ください。

事前準備

本実験キットでは 4 人 1 班を推奨しています。

<u>1 班分の試薬・機材</u>

制限酵素処理実験

コントロール（DNA サンプル 1）	…10 μl
DNA サンプル 1、 2、 3	…それぞれ 10 μl
制限酵素　*Hin*dIII	…5 μl
制限酵素バッファー	…5 μl
マイクロピペット 20 μl 用	… 1 本
マイクロピペット用チップ	… 1 箱
空の 1.5ml マイクロチューブ … 4 個	
フロート	…1 個（お湯に浮かべる用）
氷水	…適量

電気泳動実験

DNA マーカー	…10 μl
ローディングバッファー	…12 μl
DNA 染色液	…適量（ゲルが浸る程度）
マイクロピペット　20 μl 用	… 1 本
マイクロピペット用チップ	… 1 箱
蛍光観察フィルム（黄色）	
青色 LED ライト	

恒温槽	…1 台
40 倍濃縮電気泳動バッファー	…300 ml※（40 倍希釈後）
電気泳動槽	…2 台
アガロースゲル（17 ウェル）	…2 個

※使用する電気泳動層により必要量が変わります。本実験では、株式会社　アドバンスの電気泳動層、Mupid-2plus の使用を想定しております。この商品はアガロースゲル（17 ウェル）を 1 枚泳動することが可能です。

制限酵素実験の準備

1) 試薬の準備

試薬をマイクロチューブに所定の量に分けたものを、班数分を用意します。内容物が微量なため、マイクロチューブの蓋についていることがあります。その際には、蓋をしっかり閉めてチューブの上部を持ち、遠心力でマイクロチューブの底に溶液を集めてからご使用ください。

試薬は実験直前まで4℃にて保管してください。

2) 恒温槽の準備

授業開始前に恒温槽に水を入れ、37℃にセットして温めておきます。

電気泳動実験の準備

1) 電気泳動（1×TAE）バッファーの作成

40倍濃縮泳動バッファー25 mlを975 mlの水で40倍に希釈します。本キットで使用を推奨している電気泳動槽 Mupid-2 Plus では、電気泳動バッファーを約300 ml/台（ゲルが浸る程度） 使用します。

2) アガロースゲルの作製

a. 300 mlの三角フラスコに2 gのアガロースを入れ 1)で作成した電気泳動バッファー200 mlを加えよく混ぜます。三角フラスコの口をラップで閉じ電子レンジで加熱してアガロースを完全に融解させます。この作業はアガロースの粒子が見えなくなるまで行ってください。加熱の際は、沸騰による噴出に注意してください。なお、この作業は水蒸気によるやけどの危険性がありますので、必ず指導者が行なってください。なお、軍手の上にビニール手袋をして作業を行うことで火傷の危険性を下げることが出来ます。

b. 溶解させたアガロースは、電気泳動槽付属のゲルメーカーを用い

て成型します。a.で融解したアガロースを、50 °C 程度まで冷ました後、ゲルメーカーに流し込み、上からウェルを作製するためのコームを差し込みます。アガロースが固まるまで上からアルミホイルで覆い、静置してください。

※ゲルトレイの低い方の壁の 2/3 程度の高さを目安としてゲルを流し込みます。

※ 200 ml のアガロース溶液で、小さいゲルが約 8 枚、大きなゲルでは 4 枚作製できます。ゲルメーカーが 1 個しかない場合で、小さいゲルを 4 枚以上作製したいときには、a.のステップで、0.7 g のアガロースを 100 ml の電気泳動バッファーに溶かすなどして、小分けにゲル作製を行ってください。電気泳動槽 1 台で行う場合は、17 ウェルのゲルを 1 枚作成し、1 班 3 ウェルずつ使用します。また、一度固まってしまったゲルでも、再度温めることで溶解し、ゲルを作製することが可能です。

作製したアガロースゲルは、希釈後の電気泳動バッファーに浸した状態で 1 ヶ月程度常温保存が可能です。また、使用前にはウェルの底に穴が開いていないことを目視で確認してください。

3) 試薬の準備

マイクロピペットを使って、DNA マーカー溶液を 10 µl、ローディングバッファーを 18 µl ずつマイクロチューブに分けます。

実験手順

制限酵素処理実験

1) 恒温槽を 37℃にセットします。

2) 氷上で DNA サンプル、制限酵素バッファーを融解させます。

3) マイクロチューブに制限酵素バッファー 1 μl、DNA サンプル 8μl を入れ、マイクロピペットで均一に混ぜあわせます。DNA サンプル 1 を入れたものには①、DNA サンプル 2 を入れたものには②、DNA サンプル 3 をいれたものには③と記入します。

4) 3)で作成した混合溶液を氷上で 5 分間、静置してください。

5) 各班で作成したマイクロチューブに *Hin*d III 1 μl を加え、それぞれの混合溶液が均一になるようマイクロピペットで混ぜあわせてください（**注：*Hin*dⅢを入れたマイクロチューブは、必ず氷上に置いて作業してください。使用後は速やかに－20℃へ移動してください**）。

6) フローターにチューブをさし、37℃の恒温槽へ移して 60 分間静置してください（注：室温でも酵素反応は可能ですが、酵素の活性が弱くなるため切断が不完全になったり、切断の確認が難しくなる可能性がありますのでご了承ください）。

電気泳動実験の手順

1) 電気泳動槽の準備

電気泳動槽に電気泳動バッファーを加え、電気泳動槽内のマイナス極側にウェル（穴）が来るようにアガロースゲルをセットします。アガロースゲルが電極と平行になるようにセットしてください。使用する電気泳動バッファーの量は、電気泳動槽によって異なりますので、電気泳動槽の取扱説明書に従い、適切な量をご使用ください（参考：Mupid-2Plus では約 300 ml 程度）。

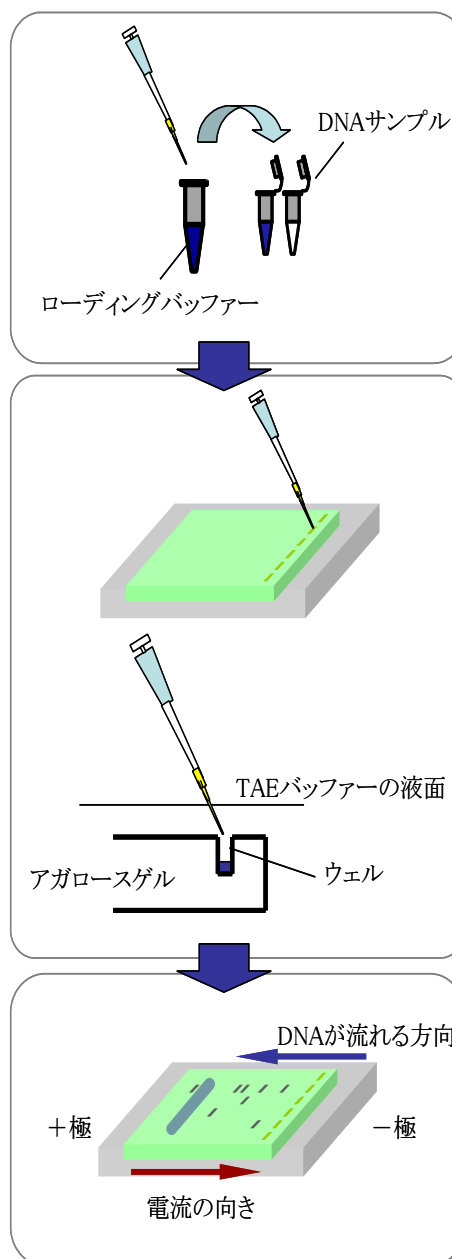
2) DNA サンプルの調製

本キット添付のローディングバッファーを 3 μl ずつ反応の終了した DNA サンプルに加えよく混ぜます（合計 13 μl）。DNA マーカーにも 3 μl のローディングバッファーを加えてよく混ぜてください。混ざったら、5 分間、室温もしくは氷上で静置してください。

3) DNA サンプルの注入（アプライ）

DNA サンプル全量を別々のウェルにアプライします。アプライは、右図のようにチップの先をウェル内まで入れないようにします。チップの先端でウェルを破壊しないよう、細心の注意を払ってください。

4) アガロースゲル電気泳動

電気泳動槽の電源スイッチを入れ、電気泳動を開始します。DNA はプラス極側に移動します。くれぐれも感電にご注意ください（参考：Mupid-2 Plus での電気泳動条件は 100 ボルトで 20 分程度）

指導のポイント

制限酵素実験

1) 制限酵素は失活しやすいので、マイクロチューブを持つ際に手で試薬を温めないように注意して下さい。また、制限酵素が入ったチューブに強い衝撃を与えないようにして下さい。

2) 少量の溶液を扱うので、マイクロピペットで吸った際にきちんと試薬が取れているかどうかを目で確認するようにして下さい。

3) DNA 溶液、制限酵素、バッファーなどを反応用チューブに入れたあと、しっかりと混合して下さい。混合の手段として、片方の手でチューブの上の方を持ち、もう一方の手の指で軽く数回チューブの先端をはじくタッピングや、マイクロピペットで溶液を何度か出し入れするピペッティングなどがあります。

4) 試薬や器具が、目や口に入らないよう注意して下さい。

電気泳動実験

1) DNA を注入するためのウェルは非常に小さいため、初めて電気泳動を行う場合は、マイクロピペットのチップを刺してゲルに穴を開けてしまったり、うまく DNA サンプルを入れられずに失敗したりする可能性があります。ゲルを多めに作っておき、実験前に手で触って固さを確かめさせたり、水で希釈したローディングバッファーを使って注入の練習をさせたりするといいでしょう。

2) アガロースゲルはもろく割れやすいため、扱いには注意が必要です。

片付け

1) 余った試薬類は、普通ゴミとして廃棄可能です。

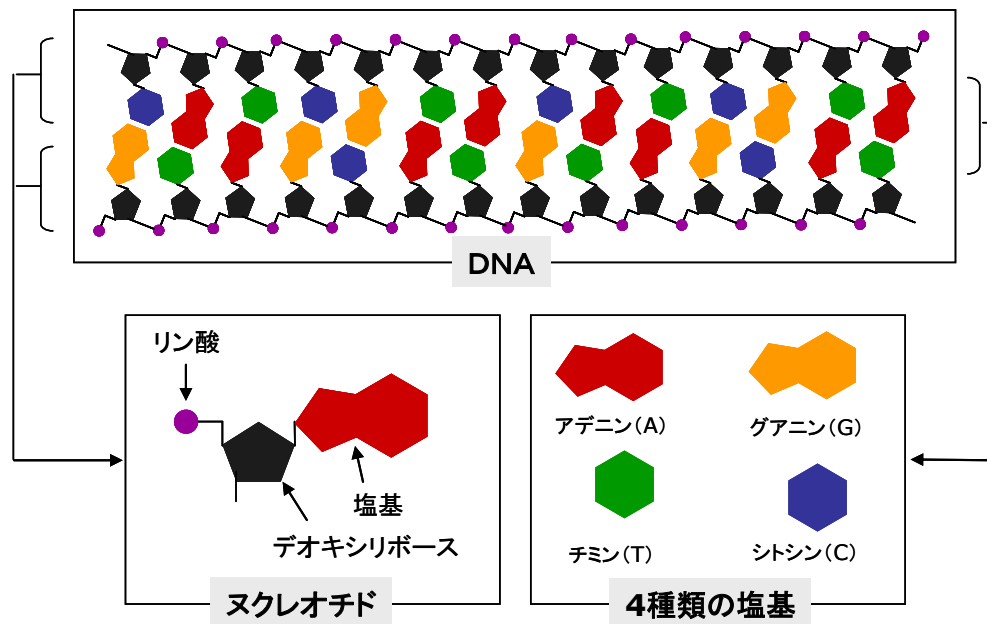
2) 使用したチップやチューブはそのまま廃棄するとゴミ袋が破れてしまう可能性があるので、二重にした小さな袋などにまとめて、プラスチックゴミとして廃棄して下さい。

3) 使用済みの電気泳動バッファーは、水道に流して捨てることができます。

4) 使用後のアガロースゲルは、袋などに密封して可燃ゴミとして廃棄できます。

付録 1 DNA について

DNA の構造

DNA は、Deoxyribo Nucleic Acid（デオキシリボ核酸）の頭文字を取ったもので、リン酸、デオキシリボースという五炭糖、塩基からなるヌクレオチドという分子が連なった、生体高分子です。下図は、DNA の構造を簡単に表した図です。

塩基にはアデニン・チミン・グアニン・シトシンの 4 種類があり、それぞれ A･T･G･C と略されています。このうち A と T、G と C は水素結合とよばれる弱い結合で結ばれる性質を持っています。図を見ると、A と T、G と C がお互いに結合しあっているのが分かります。このようにして、ヌクレオチドが結合しあって鎖状になった構造が 2 本向かい合い、有名な「二重らせん構造」となるのです。

DNA の働き

DNA がヌクレオチドの連なった構造を持つこと、また 4 種類の塩基からなることは、DNA の働きを考える上で非常に重要です。それは、DNA の塩基の並び方(塩基配列)が、体を構成したり物質の代謝などを行ったりするタンパク質の構造を決めているためです。タンパク質は、20 種類のアミノ酸が連なり、アミノ酸同士の化学的性質によって複雑な構造をとっています。 DNA の塩基配列は、このアミノ酸の並び方を決定し

ています。

DNA の塩基配列 → アミノ酸の並び方 → タンパク質の構造

塩基配列がアミノ酸の並び方を決定する方法は、暗号解読によく似ています。下の表のように、3 つの塩基でひとつのアミノ酸を決定しており、そのアミノ酸が結合することで、タンパク質がつくられます。

1番目の塩基		2番目の塩基								3番目の塩基
		T		C		A		G		
	T	TTT	フェニルアラニン	TCT	セリン	TAT	チロシン	TGT	システイン	T
		TTC		TCC		TAC		TGC		C
		TTA	ロイシン	TCA		TAA	–	TGA	–	A
		TTG		TCG		TAG		TGG	トリプトファン	G
	C	CTT	ロイシン	CCT	プロリン	CAT	ヒスチジン	CGT	アルギニン	T
		CTC		CCC		CAC		CGC		C
		CTA		CCA		CAA	グルタミン	CGA		A
		CTG		CCG		CAG		CGG		G
	A	ATT	イソロイシン	ACT	トレオニン	AAT	アスパラギン	AGT	セリン	T
		ATC		ACC		AAC		AGC		C
		ATA		ACA		AAA	リジン	AGA	アルギニン	A
		ATG	メチオニン	ACG		AAG		AGG		G
	G	GTT	バリン	GCT	アラニン	GAT	アスパラギン酸	GGT	グリシン	T
		GTC		GCC		GAC		GGC		C
		GTA		GCA		GAA	グルタミン酸	GGA		A
		GTG		GCG		GAG		GGG		G

しかし、DNA の塩基配列のすべての領域がタンパク質の構造(アミノ酸の並び)を決定しているわけではありません。実際にタンパク質の構造を決定するのは DNA 上の「遺伝子」とよばれる領域のみです。ヒトの場合、DNA は 30 億塩基対からなりますが、その中で遺伝子領域は約 5%程度しか存在しないと考えられています。

付録 2　制限酵素について

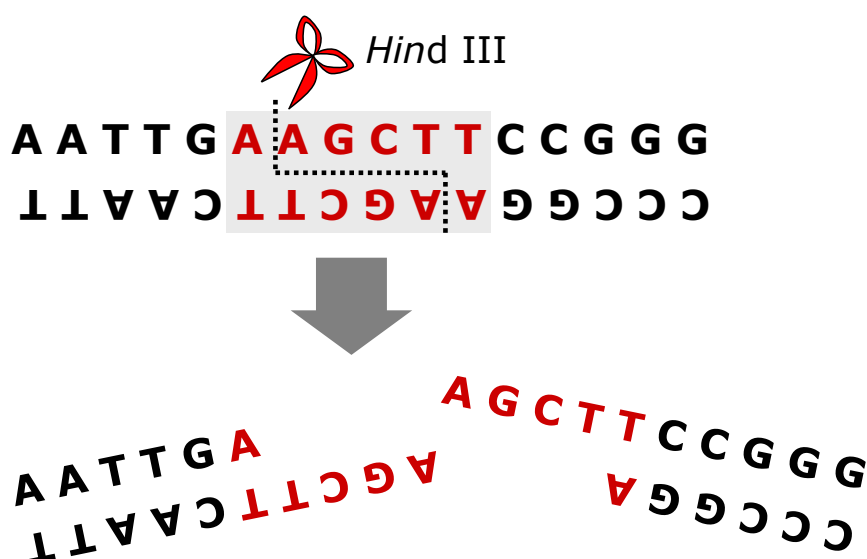
<u>細菌から発見された制限酵素</u>

　制限酵素は最初、大腸菌から発見されました。細菌にはウイルス（ファージ）に感染されたときに、ファージの増殖を抑える（制限する）働きがあります。そこで働く酵素として見つかったため、「制限酵素」という名前がつけられました。大腸菌は、侵入者の DNA を切断・分解することで自らの身を守っていたのです。その後の研究により、制限酵素は大腸菌以外にも多くの細菌が持っていることが分かり、さまざまな DNA 配列を認識するものが発見されています。

　本キットでは、 *Haemophilus influenzae* Rd.が持っている制限酵素 *Hind* III を用いてラムダ・ファージ由来の DNA の配列を切断します。

<u>制限酵素の性質</u>

　制限酵素は、特定の DNA の配列を認識し切断する酵素です。大部分の制限酵素は 4 塩基、6 塩基または 8 塩基の、特定の DNA の配列を認識し、切断します。

　制限酵素の大きな特徴は、その認識する DNA の配列がパリンドローム（回文）構造をとっていることです。パリンドローム構造とは、「シンブンシ（新聞紙）」のように前から読んでも後ろから読んでも同じことを指しますが、2 本鎖の DNA におけるパリンドローム構造とは下図のような配列（灰色四角）を指します。制限酵素 *Hind* III は下図のパリンドローム配列（赤字）を認識して特定の箇所（点線の部分）で切断します。

付録 3　DNA 鑑定について

DNA 塩基配列の違い（多型）

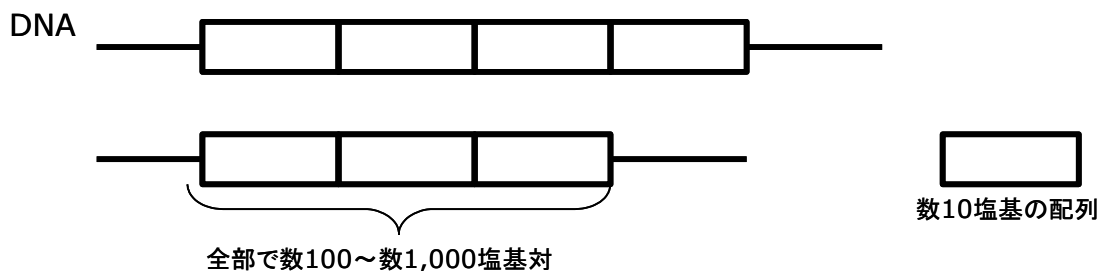
遺伝暗号である塩基配列（ATGC の並び方）は、生物種間で大きく異なりますが、種内においても塩基配列は少しずつ異なっており、この違い多型と呼びます。この多型を検出する方法が、DNA 鑑定です。ここでは、3 つのタイプの代表的な多型を説明します。

1) SNP（Single Nucleotide Polymorphism、一塩基多型）

通常「スニップ」と発音され、個体間において、塩基配列の並びが一文字違う部分のことです。数百～数千塩基に一カ所の割合で存在していると考えられており、ヒト DNA 全体では約 1000 万ヶ所存在するとされています。

SNP の違いは「個人差」に大きく関わると考えられており、実際に体質や病気のかかりやすさなどに関係する SNP が数多く見つかっています。最近の例では、2006 年 2 月に耳あかのタイプ（カサカサ、ネバネバ）の違いがたった一つの SNP によって決まるという報告がなされ、ニュースになりました。

2) VNTR（Variable Nucleotide of Tandem Repeat）

ミニサテライトとも呼ばれ、数十塩基を 1 単位とする繰り返し配列が、全体で数百～数万塩基続いている部分のことです。繰り返しの回数が個人によってちがうので、長さを比べることで、個人の配列の違いを見ることができます。最初に開発された DNA 鑑定法は、この VNTR の長さを調べるものでした。

3) マイクロサテライト（Microsatellite）

VNTR よりも短い繰り返し配列のことです。2～6 塩基の繰り返し配列

が、全体で 100～300 塩基続いています。ここもまた個人によって繰り返しの回数が異なります。このような部分がヒト DNA 全体に数万個ほど存在しています。現在の DNA 鑑定は、主にこのマイクロサテライトを調べる方法で行われています。

4) CNV（Copy Number Variation、コピー数多型）

通常、ヒトの細胞には同じ遺伝子は父親由来のものと母親由来のものの 2 個が存在すると考えられています。しかし 2004 年に、人によっては同じ遺伝子が 3 個以上あったり 1 つしか無かったりと、遺伝子の数に個人差があることが明らかになりました。この違いが CNV で、1000 塩基以上の長さに渡る大きな領域の「数の個人差」です。さらに 2006 年には、この CNV はヒト DNA 全体の 10％以上の領域に渡り、約 2 万 3000 個とされる遺伝子のうち約 3000 個にあたることが報告されました。

現在では CNV は病気のかかりやすさ、薬の効きやすさなどを含むさまざまな体質の差に大きな影響を及ぼしていると考えられています。

本キットは、植物のモデルとして世界中で研究されている植物であるシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）の SNP を、制限酵素によって切断できるかできないかによって検出するものです。

シロイヌナズナは、その産地によっていくつかのタイプに分けられており、本キットでは、そのなかでもコロンビアおよびランズバーグと呼ばれる品種の DNA を使用しています。

シロイヌナズナの G4711 と呼ばれる位置は、ランズバーグ株の DNA では制限酵素 *Hind* III によって切断される一方、コロンビア株の DNA では切断されません。

この SNP を利用し、G4711 の周辺約 1、500 塩基を PCR によって増幅したのちに、この断片を *Hind* III で処理することで、コロンビアとランズバーグを判別することができます。

また、シロイヌナズナの核には 2 セットのゲノム DNA があるため、コロ

ンビアとランズバーグを掛け合わせた品種では、*Hin*d III によって切断される断片と切断されない断片ができます。

本キットでは、DNA サンプル 1 をコロンビアから、DNA サンプル 2 をランズバーグから、DNA サンプル 3 をコロンビアとランズバーグを掛け合わせたものから作成しており、それぞれの多型を検出することができます。

＊弊社プログラムでは、それぞれを架空の事件、犯人から作成した DNA サンプルとして、ゲーム性を持たせたものにしています。

付録 4　電気泳動の原理

アガロースゲル電気泳動法とは？

アガロースゲル電気泳動法は、DNA や RNA などの核酸をそれらの電気的な性質を利用して分離する方法です。核酸は「マイナス」の電荷を帯びているため、電場に置かれると、アガロース（※）のゲルの網目構造内(ゲルマトリックス)を＋極側に移動します。アガロースゲル電気泳動法では、長い DNA 断片はゲルマトリックス内をゆっくりと（引っかかりながら）動くのに対して、短い DNA 断片はより速く（あまり引っかからずに）動くことから、DNA 断片を長さによって分離することが可能です。この方法はバイオテクノロジーの研究において DNA 断片の精製の際に用いられる最もポピュラーな方法であり、現在のバイオテクノロジーを支える基本的な技術です。

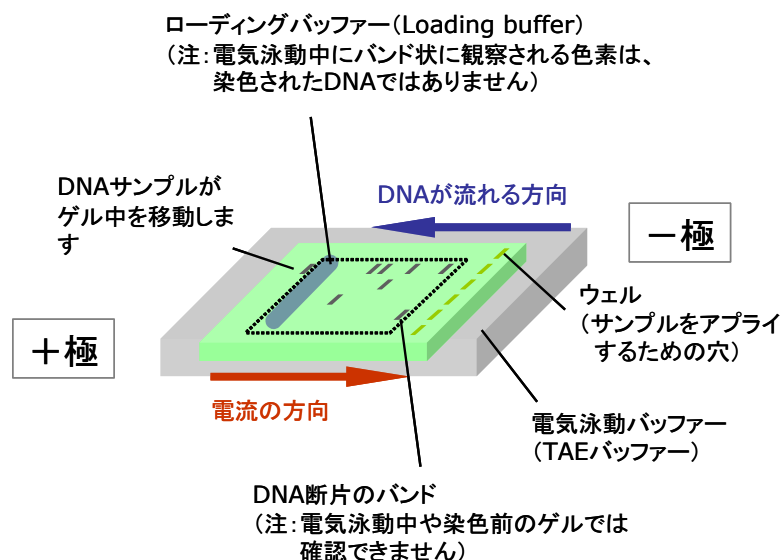
※アガロースとは？

アガロースは、「寒天」の主要な成分です。2 種類の糖が結合しあって網目状の構造をとることから、生体高分子、特に DNA を分離する際によく利用されます。

DNA の電気的性質

DNA は、リン酸基・塩基・デオキシリボース（糖の一種）によってできる「ヌクレオチド」とよばれる分子が直鎖状につながった構造をとっています。このうちリン酸基と塩基が荷電しています。

DNA の場合、塩基の荷電は二重鎖構造をとるために打ち消されているので、水溶液中ではリン酸基のみが荷電しており、したがって DNA はヌクレオチド数、すなわち分子量（※）に比例したマイナスの電荷を持っていることになります。

※DNA はヌクレオチドが直鎖状につながった構造をとるため、分子量はそのヌクレオチド数に比例します（塩基の種類によって多少の誤差が生じます）。一般的に DNA の大きさは分子量で表さずヌクレオチドの長さ（塩基対数、base pair：bp）で表します。

上図は、アガロースゲル電気泳動法の模式図を示しています。アガロースゲル電気泳動を行う際には、サブマリン型電気泳動槽とよばれる機器を使用します。まず電気泳動槽を、導電性でかつ DNA の分解が起こりにくい電気泳動バッファーで満たし、その中にアガロースゲルを静置します。アガロースゲルには、ウェルとよばれるサンプルをアプライするための穴があり、マイクロピペットを用いてここに DNA サンプルをアプライします。

DNA サンプルを電気泳動する際には、あらかじめ DNA サンプルをローディングバッファーと混和します。これにより DNA サンプルは、泳動バッファー中に拡散することなく、ウェル内にアプライすることが可能となります。ローディングバッファーには、電気泳動中にサンプルの移動度の目安となる色素や、ウェルに DNA サンプルを沈ませるためのグリセロールなどが含まれています。

あらかじめ DNA 断片のサイズの分かっている DNA マーカーを「DNA のモノサシ」として隣のレーンに電気泳動することで、未知のサンプルの分子量を検討することも可能です。

電気泳動の終了後は、DNA 断片を可視化するために染色します。DNA 染色に用いられる試薬としては、エチジウムブロマイド（EtBr）、Mupid Blue などが挙げられます。EtBr は検出感度に優れていますが、DNA の 2 本鎖の間に入り込む（インターカレーションする）物質であり、

発がん性が認められます。また、DNA 断片のバンドの観察の際に紫外線ランプが必要となるため、ビニール手袋を必ず着用し、防護メガネを使用するなど、取扱いには十分な注意が必要です。本キットでは、安全な DNA 染色液を使用しています。

電気泳動バッファー

DNA の電気泳動では、一般に TAE バッファーや TBE バッファーが用いられます。TAE バッファーは数千 bp 以上の比較的長い DNA 断片の分離に適しているのに対して、TBE バッファーはそれよりも短い DNA の分離に適しています。

アガロースゲルの濃度

電気泳動法による DNA の分離実験では、ゲルの作成の際のアガロースの濃度が非常に重要となります。アガロースの濃度が上がれば上がるほどゲルマトリックス分子と DNA 断片の相互作用は強くなり DNA 断片の移動度が小さくなるため、より細かい DNA 断片の分離が可能となります。分離したい DNA 断片の長さによって適当なアガロース濃度を選択することが大切です。本キットでは、1%のアガロースゲルを使用することを推奨しています。

アガロース濃度(%)	分離できる DNA 断片の長さ(bp)
0.6	1,000~20,000
0.7	800~10,000
1.0	500~7,000
1.2	400~6,000
1.5	200~3,000
2.0	100~2,000

付録 5　マイクロピペットの使い方

マイクロピペットは、微量の液体を正確に測り取るための器具です。使用方法はメーカーによって多少異なります。ここでは最も一般的なものについて説明します。

1) 目盛りを見ながら、数値が測り取りたい量になるまでダイアルを回してください。目盛りは、200 μl 用の場合は上から百の位、十の位、一の位、20 μl 用の場合は十の位、一の位、1/10 の位になっています。例えば図のような目盛りの場合、200 μl 用だと 85 μl、20 μl 用だと 8.5 μl を示していることになります。

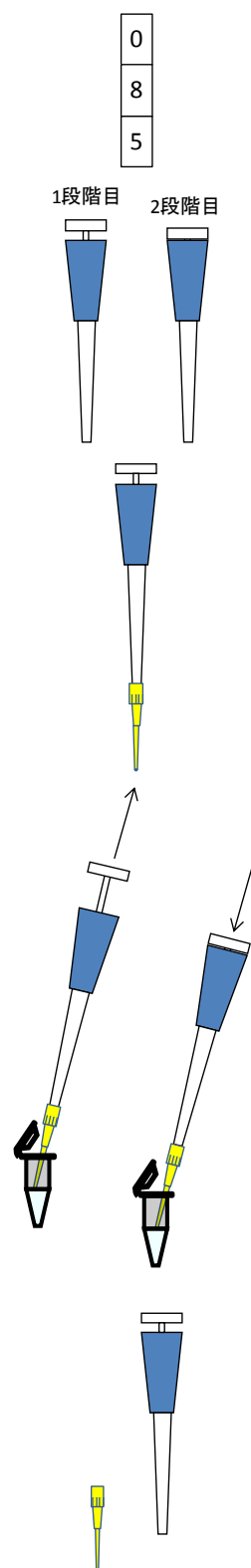
   シャフトには軽い力で押し込める 1 段階目と、強い力で押し込める 2 段階目があるので、まずはそれを確認してください。試薬を取る際は 1 段階目で止めます。2 段階目まで押し込んでしまうと、設定した容量よりも多くの液体を吸ってしまいます。

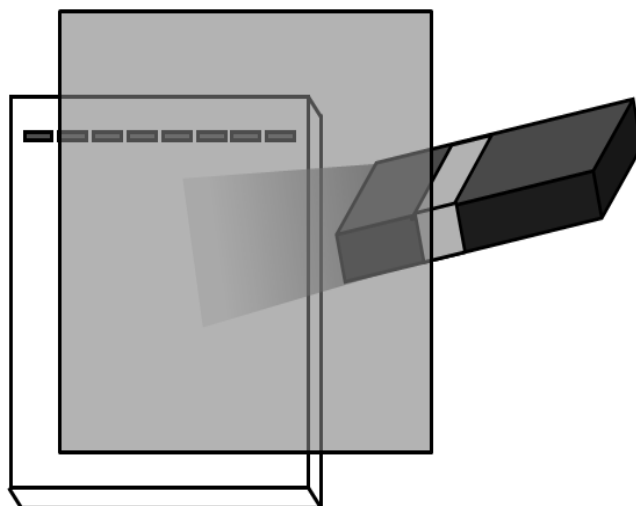
2) マイクロピペットの先端をチップの口に押し込み、しっかりとチップをはめてください。これで準備は完了です。

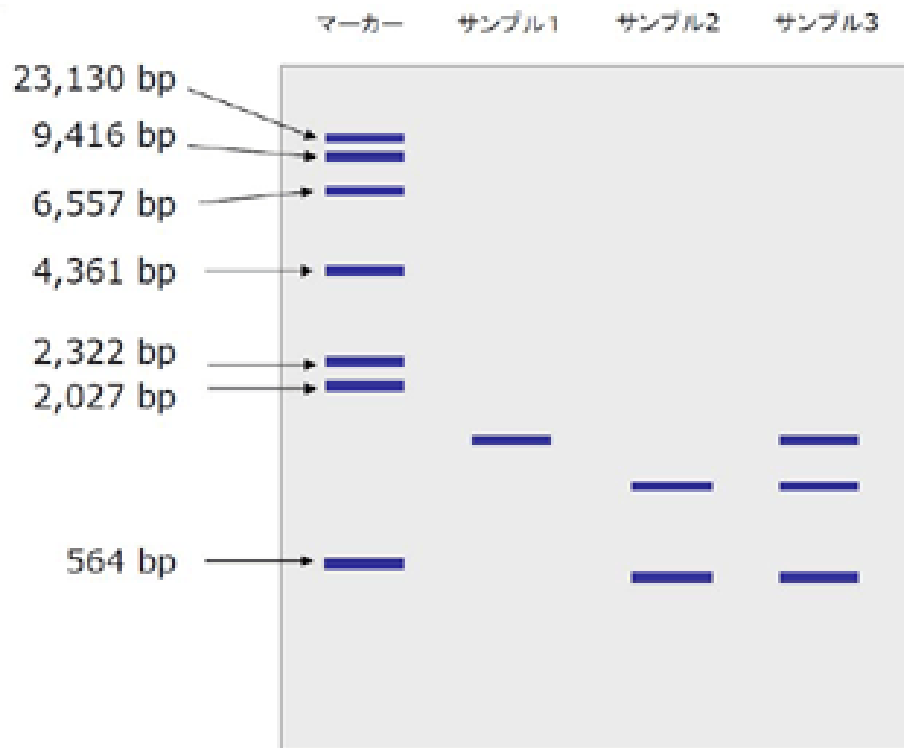
3) シャフトを 1 段階目まで押し込んだ状態で、チップの先端を溶液中に入れてゆっくりとシャフトを上げると、チップ中に溶液が入っていきます。

   ※ここで一気にシャフトが上がると、チップ中に空気が入りやすくなりますので注意してください。

4) 溶液を吸ったチップの先端を新しいチューブに入れてシャフトを押し込むと、溶液をはき出せます。このとき溶液を完全にはき出すために、シャフトを 2 段階目まで押し込んでください。シャフトを押したままチップの先を液体から出します。

5) 使用済みのチップをマイクロピペットから外して捨ててください。溶液の混入をふせぐため、異なる溶液を取る際は必ずチップを交換してください。

付録 6　DNA 観察の推奨方法

泳動槽からゲルを取り出し、青色 LED ライト（ブラックライト、紫外線でも可能）の光を当てます。ライトを当てている上から蛍光観察フィルム（黄色、セロファンでかまいません）をかぶせ、フィルムの上から観察します。

付録 7　予想されるバンド像

*Hin*d III は DNA 断片のうち AAGCTT という配列を認識し、切断します。この DNA 配列は、DNA サンプル 1 にはなく、DNA サンプル 2 には 1 箇所存在しています。DNA サンプル 3 には、この DNA 配列が 1 箇所存在する断片と存在しない断片の両方が含まれています。0.7%アガロースゲルによって 25 分間 DNA 電気泳動を行うと、下図のような結果となることが予想されます。

サイエンスレスキューFAX問合せ票

ご記入後
03-6277-8042
へご送付ください

＜お客様情報＞

お名前	学校名
ご連絡先：TEL	FAX

＜ご利用いただいたキット＞

キット名	

＜お問い合わせ内容＞

☐準備方法について　☐実験方法について
☐実験結果について　☐内容物について
☐授業での活用方法について　☐その他（　　　　　　　　　）

＜お問い合わせ内容について詳細お書きください＞

ご利用ありがとうございます。担当者より追ってご連絡いたします。

Feel so Ecoシリーズ　カスタマーサポート係
TEL：03-6277-8041　FAX：03-6277-8042
Mail：ed-kit@leaveanest.com

免責事項

本製品は、バイオ教育を目的として開発されたキットです。本取扱説明書に記載された手順以外でのご使用につき発生したいかなる損害に関して、当社は一切の責任を負いません。

商品のご返品について

商品のご返品につきましては、弊社の確認を必要とさせていただきます。この確認なしでのご返品はご遠慮ください。適切な保存、ご使用をされていない製品についてはご返品をお受けできない場合がございます。また、品質保持のために返品された製品を再販することは一切ございません。

アフターサポート『バイオレスキュー』

ご購入後 3 ヶ月間(ご購入月を含む)無料でご利用いただける、アフターサポートサービスです。大学や研究機関等でバイオの研究に携わる、若手研究者が実験手順や先端科学に関する知識面のサポートをいたします。

サポートを担当するのは、リバネスが実施する先端科学実験教室のノウハウを持つスタッフでもありますので、授業内で行う実験カリキュラム等に関するご相談も承っております。気軽にご利用いただけるサービスですので、少しでもご不明な点がございましたらぜひご利用下さい。

Feel so Bio シリーズ　カスタマーサポート係

TEL：03-6277-8041

FAX：03-6277-8042

Mail：ed-kit@leaveanest.com

※FAX をご利用の場合は、同封の FAX 用紙にご記入の上ご送信ください。

製造・販売元

お問い合せ先

〒160-0004
東京都新宿区四谷 2-11-6 VARCA 四谷
TEL 03-6277-8041
FAX 03-6277-8042
URL：http://www.leaveanest.com/